

Handwritten signature

RAPPORT D'ETUDE

**ETUDE DES EFFETS DE L'HYDROLYSAT "INGEDIA", ADMINISTRE PAR VOIE ORALE
AU COURS DE LA GESTATION A DES MERES, SUR LES MALFORMATIONS INTERNES
ET EXTERNES DES JEUNES DE LEURS PORTEES CHEZ LE RAT WISTAR**

CODE DU PROTOCOLE : INGRECIA-18/1100/Anatomie Pathologique

PROMOTEUR

INGREDIA

J.-F. BOUDIER, B. DEMAGNY, C LEFRANC
51-53, Avenue F Lobbedez F-62033 Arras Cedex

AUTEUR

Pr. F. PLENAT

Laboratoire d'Anatomie Pathologique – Faculté de Médecine
9, Avenue de la Forêt de Haye F-54505 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex

ESSAI EN CONFORMITE AVEC LES BONNES PRATIQUES
EN EXPERIMENTATION ANIMALE

Mai 2001

PERIODE D'EXPERIMENTATION FEVRIER - AVRIL 2001

TABLE DES MATIERES

AUTEUR	2
1 - INTRODUCTION	3
2 - MATERIELS ET METHODES	4
2.1 - Animaux	4
2.2 - Procédure expérimentale ..	4
3 - RESULTATS	5
4 - CONCLUSION	10

Laboratoire d'Anatomie Pathologique
Faculté de Médecine
9, Avenue de la Forêt de Haye
B.P. 184
54505 VANDOEUVRE-LES-NANCY CEDEX
Tél. 03 83 59 26 03 - Fax : 03 83 59 26 60

**ETUDE DES EFFETS DE L'HYDROLYSAT "ING 911", ADMINISTRE PAR VOIE ORALE AU
COURS DE LA GESTATION A DES MERES, SUR LES MALFORMATIONS INTERNES ET
EXTERNES DES JEUNES DE LEURS PORTEES CHEZ LE RAT WISTAR**

AUTEUR

Je, soussigné, déclare que le travail décrit dans ce rapport a été réalisé sous ma responsabilité et que ce rapport correspond fidèlement aux résultats obtenus.

Je déclare par ailleurs que la présente étude a été réalisée en accord avec les Protocoles de Travail Standards du Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nancy, Université H. Poincaré et conformément aux principes de Bonnes Pratiques de Laboratoire, y compris l'archivage des documents d'origine.

Vandoeuvre-lès-Nancy, le 11 Mai 2001


Professeur F. PLENAT

1 -- INTRODUCTION

A la demande d'INGREDIA, le Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nancy, Université Henri Poincaré, a réalisé une étude macroscopique et microscopique afin d'évaluer les effets anatomiques de l'hydrolysate "ING 911", administré tout au long de la gestation à des femelles de rat de la souche Wistar, sur les malformations internes et externes chez des jeunes mâles et femelles de leurs portées. Un mâle et une femelle, âgés de trois semaines ont été tirés au hasard dans chaque portée dont la mère est traitée avec l'hydrolysate ING 911 pendant toute la gestation, à la dose quotidienne de 150 mg/kg. Un mâle et une femelle de même âge issus des portées dont les mères n'ont reçu que du lait en poudre écrémé à la dose de 150 mg/kg, ont servi d'animaux témoins.

2 - MATERIELS ET METHODES

2.1 - Animaux

Seize femelles nullipares de la souche Wistar (Centre d'élevage Iffa-Credo, 69-St-Germain sur l'Arbresle, France), âgées de 12 semaines ont été croisées avec des mâles de la même souche âgés de 16 semaines. Le lendemain de la fécondation, les femelles gestantes ont été réparties en deux groupes de traitements (n = 8) : un groupe a été traité avec de l'hydrolysate ING 911 pendant toute la gestation (J1 à J20), à la dose quotidienne de 150 mg/kg et l'autre a reçu du lait en poudre écrémé à la même dose pendant la même période (groupe témoin) A la naissance, les femelles avec leurs portées ont été codées et installées dans des cages en polycarbonate de type F (48 x 27 x 20 cm, U.A.R., 91 - Epinay-Sur-Orge, France). Après avoir relevé la taille des portées, celles-ci ont été réduites à 8 jeunes (4 mâles et 4 femelles), afin d'étudier des groupes de portées de tailles comparables.

Les croisements, le suivi des gestations, les traitements des femelles et les tests de développement physique et neuromoteur des jeunes au cours des trois semaines suivant la naissance ont été réalisés par le Centre de Recherches ETAP-Ethologie Appliquée 13, rue du Bois de la Champelle 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy (Dr. A. NEJDI).

2.2 - Procédure expérimentale

A l'âge de trois semaines, 8 jeunes rats mâles et 8 jeunes rats femelles ont été tirés au hasard dans les portées des deux groupes et ont été confiés au Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nancy en vue de relever d'éventuelles malformations organiques internes et externes.

Variables étudiées

- malformations générales externes ;
- malformations viscérales internes ;
- malformations squelettiques ;
- examen histologique.

3 - RESULTATS**Tableau 1**

Malformations générales						
Témoins Lots 02-03/2001	Mâle N° 1	Mâle N° 2	Mâle N° 3	Mâle N° 4	Femelle N° 5	Femelle N° 6
Tête -normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Oreilles -normales -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Bouche -normale -fente labiale -fente palatine	OUI OUI NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON
Membres ant. -normaux -nombre -doigts	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI
Membres post. -normaux -nombre -doigts	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI
Anus -normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit. Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue -normale -taille	OUI 9 cm	OUI 8 cm	OUI 6 5 cm	OUI 6 5 cm	OUI 8 cm	OUI 6 5 cm
Squelette général -ossification normale avancée	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI
Côtes -nombre -disposition	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI
Malformations viscérales						
Cœur -normal -cavités	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI
Poumons -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Reins -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Appareil digestif Foie Estomac Intestins	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI

Tableau 2

Malformations générales						
Traités Lots 02-03/2001	Mâle N° 7	Mâle N° 8	Mâle N° 9	Mâle N° 10	Femelle N° 11	Femelle N° 12
Tête						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Oreilles						
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Bouche						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-fente labiale	NON	NON	NON	NON	NON	NON
-fente palatine	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Membres ant.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Membres post.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Anus						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit.						
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-taille	7 cm	7.5 cm	7.5 cm	7 cm	7.5 cm	7 cm
Squelette général						
-ossification normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-avancée	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Côtes						
-nombre	12	12	12	12	12	12
-disposition	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Malformations viscérales						
Cœur						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-cavités	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Poumons						
-normaux	OUI	Ebauche scissure d'un lobe pulmonaire gauche	OUI	3 lobes gauches	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Reins						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Appareil digestif						
Foie	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Estomac	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Intestins	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI

Tableau 3

Malformations générales							
Traités Lots 02-03/2001	Femelle N° 13	Femelle N° 14	Mâle N° 21	Mâle N° 22	Femelle N° 23	Femelle N° 24	Femelle N° 25
Tête							
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux							
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2	2
Oreilles							
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2	2
Bouche							
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-fente labiale	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
-fente palatine	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Membres ant.							
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Membres post.							
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Anus							
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit.							
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue							
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-taille	7 5 cm	7 5 cm	8 cm	8 cm	9 3 cm	8 4 cm	8 5 cm
Squelette général							
-ossification normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-avancée	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Côtes							
-nombre	12	12	12	12	12	12	12
-disposition	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Malformations viscérales							
Cœur							
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-cavités	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Poumons							
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2	2
Reins							
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2	2
Appareil digestif							
Foie	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Estomac	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Intestins	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI

Tableau 4

Malformations générales						
Témoins Lots 02-03/2001	Mâle N° 15	Mâle N° 16	Mâle N° 17	Mâle N° 18	Femelle N° 19	Femelle N° 20
Tête -normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Oreilles -normales -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Bouche -normale -fente labiale -fente palatine	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON
Membres ant. -normaux -nombre -doigts	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI
Membres post. -normaux -nombre -doigts	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI
Anus -normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit. Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue -normale -taille	OUI 8 cm	OUI 8 cm	OUI 7 9 cm	OUI 8 1 cm	OUI 8 cm	OUI 8 2 cm
Squelette général -ossification normale avancée	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI
Côtes -nombre -disposition	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI
Malformations viscérales						
Cœur -normal -cavités	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI
Poumons -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Reins -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Appareil digestif Foie Estomac Intestins	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI

Tableau 5

Malformations générales							
	Traités Lots 04/2001			Témoins Lots 04/2001			
	Mâle N° 1	Mâle N° 2	Femelle N° 3	Femelle N° 1	Femelle N° 2	Femelle N° 3	Femelle N° 4
Tête -normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Oreilles -normales -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Bouche -normale -fente labiale -fente palatine	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI OUI NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON	OUI NON NON
Membres ant. -normaux -nombre -doigts	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI
Membres post. -normaux -nombre -doigts	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI	OUI 2 OUI
Anus -normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit. Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue -normale -taille	OUI 9 5 cm	OUI 8 5 cm	OUI 7 cm	OUI 7 cm	OUI 7 cm	OUI 8 2 cm	OUI 10 cm
Squelette général -ossification normale avancée	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI
Côtes -nombre -disposition	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI	12 OUI
Malformations viscérales							
Cœur -normal -cavités	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI	OUI OUI
Poumons -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Reins -normaux -nombre	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2	OUI 2
Appareil digestif Foie Estomac Intestins	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI	OUI OUI OUI

4 – CONCLUSION

Une étude macroscopique et microscopique a été réalisée afin d'évaluer les effets de l'hydrolysate "ING 911", administré tout au long de la gestation à des rattes de la souche Wistar, sur les malformations internes et externes chez des jeunes mâles et femelles de leurs portées.

Un mâle et une femelle, âgés de trois semaines ont été tirés au hasard dans chaque portée dont la mère est traitée avec l'hydrolysate ING 911 pendant toute la gestation, à la dose quotidienne de 150 mg/kg. Un mâle et une femelle de même âge, issus des portées dont les mères n'ont reçu quotidiennement que du lait en poudre écrémé à la dose de 150 mg/kg, P.O., ont servi d'animaux témoins.

Aucune malformation significative n'a été retrouvée à l'examen macroscopique sous microscope opératoire chez les jeunes rats mâles et femelles des deux groupes de traitements.

L'observation d'une scissure pulmonaire supplémentaire chez un rat mâle du groupe traité ne peut être considérée comme une malformation, mais correspond en fait à une variante, dans les limites de la normale.

Des examens histologiques portant sur tous les viscères des rats témoins et traités des séries de Février – Mars 2001 n'ont pas révélé d'anomalies tissulaires.

Deux rats mâles (rats n° 8 et 10 du groupe "Traités : Lots Février - Mars 2001) ont fait l'objet d'une coloration squelettique à l'Alizarine suivie d'une diaphanisation. Il n'a pas été observé d'anomalie squelettique.

En conclusion, l'administration quotidienne d'hydrolysate "ING 911", à la dose de 150 mg/kg, P.O., à des rattes Wistar tout au long de leur gestation, n'induit pas de malformations générales ou viscérales chez les jeunes mâles et femelles de leurs portées.

Vandoeuvre-lès-Nancy, le 11 Mai 2001


Professeur F. PLENAT